

基于 CCI 实验设计优化液相色谱条件

李敏, 刘洁, 周燕*

中国科学院成都生物研究所, 成都 610041

摘要: **目的:** 以实验设计的方法, 优化了裸蒴 *Gymnotheca chinensis* 甲醇提取物的液相色谱条件, **方法:** 通过该析因实验以及 CCI 实验设计, **结果:** 优化其最终色谱条件为 5.0%-9.8%, 5.8min. 9.8%-99.6% 20min, 柱温为 80℃, 进样量为 3μL. **结论:** 在该条件下得到 174 色谱峰, 即平均分离度为 1.35。
关键词: CCI; 裸蒴; 色谱条件

Liquid chromatographic condition optimization based on CCI design

LI Min, LIU Jie, ZHOU Yan*

Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041

Abstract: **Objective:** optimizing the chromatographic condition. **Method:** the design of experiment was used to optimize the chromatographic condition. the factorial experiment and central composite inscribed design (CCI) were arranged for it. **Result:** The optimization chromatographic condition was the 5.0%-9.8% 5.8min, 9.8%-99.6% 20min, column temperature was 80℃, inject volume 3μL. **Conclusion:** In this condition, the 174 peaks were separated and the average resolution was 1.35.

Keywords: CCI; *Gymnotheca chinensis*; chromatographic condition

裸蒴 *G. chinensis* Decne 和白苞裸蒴 *G. involucrate* Pei 为三百草科裸蒴属 *Gymnotheca* Decne 植物, 该属仅包含两种, 为我国特有植物[1]。主要分布于云南、四川、贵州、广西和湖北等地。该属植物为我国传统中药, 具有治疗跌打损伤等功效[2]。何达海等证实其主要成分为木脂素类化合物[3]。但目前有效化合物尚未被证实。故对优化其分析色谱条件对其活性成分的研究有指导意义。

1 仪器和试剂

UPLC 色谱仪 (Waters 公司), Waters Acquity BEH C18 色谱柱 (100×2.1 mm, 1.7 μm), 乙腈为色谱纯 (美国 Fisher 公司); 裸蒴采自重庆金佛山, 由重庆市药物种植研究所易思荣副研究员鉴定为 *Gymnotheca chinensis* Decne。植物标本 (T57) 现存放在中国科学院成都生物研究所。

2 实验过程

样品浸膏 33 mg, 溶于 50 mL 容量瓶中。取 2 mL 备用。以双斜率 (即在同一色谱条件中存在 2 个不同的梯度斜率) 和柱温作为因子筛选条件。共有 5 因子 (gradient1, Time1, Gradient2, Time2 and Temperature)。将具有显著性的影响因子带入 CCI 实验设计中, 由于

收稿日期: 2013-09-30

作者简介: 李敏, 电话: 13540288794; E-mail: da123mao@126.com

*通讯作者: 周燕, 中国科学院成都生物研究所主任, 电话: 13688449244; E-mail: zhouyan@cib.ac.cn

全 CCI 实验需要 52 次实验，故选择 1/2 次实验，即 33 次实验设计的方案，进行色谱条件优化。

3 实验结果

3.1 析因实验结果

从 Pareto 中可以看出，对于总峰个数，5 个因素均具有显著性影响。对于分离度而言温度以 time1，gradient2，具有显著性影响，从方差分析中可以看出，其弯曲项 ($p<0.05$)，说明各因素均达到最佳区域。

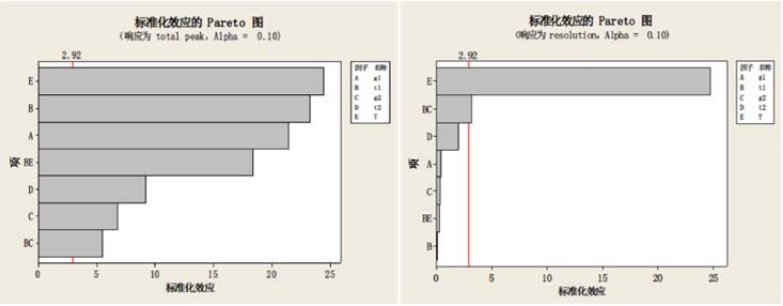


图1 因子分析实验pareto
Fig. 1 the pareto

3.2 CCI 实验结果

经方差分析可以看出，该方法不失拟 ($p<0.1$)，其相关系数 R-sq 均大于 80%说明该模型能较好的模拟裸蒴的色谱行为。我们在响应优化器设置期望值，即 total peak 设置成望大，分离度的期望为 1。故其色谱条件为 5.0%-9.8%，5.8min. 9.8%-99.6% 20min，柱温为 80℃，进样量为 3uL。

表 1 Total peaks 方差分析

Table 1 the ANOVA of the total peaks

来源	自由度	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
区组	1	109.5	16.2	16.2	0.20	0.664
回归	20	33873.6	33873.6	1693.7	20.91	0.000
线性	5	21028.4	21028.4	4205.7	51.92	0.000
平方	5	959.5	959.5	191.9	2.37	0.108
交互作用	10	11885.6	11885.6	1188.6	14.67	0.000
残差误差	11	891.0	891.0	81.0		
失拟	6	701.6	701.6	116.9	3.09	0.118
纯误差	5	189.3	189.3	37.9		
合计	32	34874.1				

参考文献:

- [1] 应俊生, 张玉龙. 中国种子植物特有属[M].北京: 科学出版社,1994
- [2] 张惠源, 张志英. 中国中药资源志药 [M]. 北京: 科学出版社.1994
- [3] HE Dahai, DING Lisheng, XU Hongxi, et al. Gymnothelignans A-O conformation and absolute configuration analyses of lignans bearing tetrahydrofuran from Gymnotherca chinensis[J]. Journal of Organic Chemistry, 2012, 77(19): 8435-8443